AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor Prof. Dr. W. Seitz

Untersuchungen über das „freie" und „gebundene" Insulin im Serum von Patienten mit und ohne Arteriosklerose

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
ROLF SATTLEGGER
aus Spittal/Kärnten

München 1967

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK

DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor Prof. Dr. W. Seitz

Untersuchungen über das "freie" und "gebundene" Insulin im Serum von Patienten mit und ohne Arteriosklerose

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Rolf Sattlegger

aus Spittal/Kärnten

München 1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0053

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. H. Mehnert

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan : Prof. Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 10.1.67

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

II. Material und Methodik

A. Untersuchungsgut

B. Biochemische Grundlagen der Methodik
1. Diaphragmamethode
2. Fettgewebsmethode
3. Einfluß des Insulins auf den Gewebsstoffwechsel

C. Reagentien

D. Durchführung der Bestimmung der gesamten und freien insulinähnlichen Aktivität des Serums mit der Fettgewebsmethode

E. Manometrische Meßtechnik

III. Ergebnisse in Form von Tabellen

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Literaturverzeichnis

I. EINLEITUNG

Die Bedeutung des Insulins im Kohlenhydratstoffwechsel des Lebewesens war schon lange eingehend untersucht und gut bekannt. Daß aber dieses Hormon auch im Energiestoffwechsel, in der Energiemobilisation und Speicherung, also im Stoffwechselgeschehen des lange Zeit als stoffwechselträge angesehenen Fettgewebes, eine zentrale Bedeutung besitzt, geht aus den Arbeiten von A. E. Renold und vielen anderen (1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10) deutlich hervor.
Auf dieser Tatsache aufbauend, entwickelten Renold und Mitarbeiter (2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 43) bzw. Froesch (1) zwei Methoden der indirekten biologischen Bestimmung des Insulins, die speziell die Wirkung des Hormons auf die Oxydation des C_1-Atoms des Glucosemoleküls über den Pentose-Phosphat-Zyklus ausnutzten (7, 41, 42, 43).
Die Wirkung des Insulins auf den Muskelstoffwechsel benutzten andere Autoren (11, 12, 14, 15), um mit Hilfe der Glucoseaufnahme am isolierten Rattendiaphragma die Insulinaktivität eines Serums zu bestimmen.
Vergleicht man die mit Hilfe dieser Methode erzielten Ergebnisse (32), so findet man, daß die ILA (insulinähnliche Aktivität = insulin-like activity), gemessen am Rattenzwerchfell, lediglich 10 % der am Rattenfettgewebe gemessenen ILA ausmacht. Die Annahme, daß es sich dabei allein um das in vivo an der Zelle wirkende Insulin handeln könnte, führte zur Bezeichnung "freies" Insulin (32, 40).
Durch Hemmung mit Insulin-Antikörpern und Subtraktion der mit dieser erweiterten Fettgewebsmethode gewonnenen Ergebnisse der nicht unterdrückbaren insulinähnlichen Aktivität (NSILA = non suppressible insulin-like activity) von Werten der gesamten insulinähnlichen Aktivität (im Parallelversuch ohne Antikörperzusatz erzielte Werte) ist es möglich, auch mit der Fettgewebsmethode den "freien" Anteil der ILA zu bestimmen (1). Die Werte, die auf diese Weise erzielt wurden, stimmen mit denen mit der radioimmunologischen Methode (31) erzielten gut überein, so daß man schließen kann, daß sie den wirklichen Gehalt an wirksamem "freien" Insulin angeben.

Das Problem, welche Bedeutung der nicht unterdrückbaren ILA zuzumessen sei, ist bis heute noch nicht endgültig gelöst, wenn auch Wieland (3,23,22) und andere fanden, daß zumindest ein großer Teil dieser NSILA (" non suppressible insulin-like activity) in der Leber gebildet zu werden scheint. Andere Autoren (1, 2, 24, 25, 26) sehen in der NSILA ein Umwandlungsprodukt des freien Insulins, oder aber ein an Plasma gebundenes Insulin. Der unterschiedliche Einfluß der Insulinantagonisten bzw. anderer Hormone auf den Fett- bzw. Muskelstoffwechsel könnte zu der starken Differenz der Werte beitragen (1, 24, 25, 30).
Im Serum von frisch erkrankten Diabetikern bzw. genetisch (17, 19, 49, 50, 51) definierten Prädiabetikern fanden sich entgegen bisher geläufigen Vorstellungen mit diesen biologischen Nachweismethoden höhere Durchschnittswerte der gesamten insulinähnlichen Aktivität und der Insulinantagonisten, als bei normalen Patienten (32).
Weinert (40) diskutiert - gestützt auf Ergebnisse erhöhter Insulinantagonistenwerte nichtdiabetischer Herzinfakt-Patienten (49) - eine Grundkrankheit, die den Krankheitsbildern des Diabetes mellitus bzw. der nichtdiabetischen Angiopathie übergeordnet sein könnte und sich am besten mit Hilfe der Werte der Insulinantagonisten als existent beweisen lasse. (49, 50, 51, 52, 53).
Wir wollten in dieser Arbeit versuchen, das Verhältnis zwische freier und gebundener Insulinaktivität am Nebenhodenfettgewebe der Ratte mit Hilfe von Insulinantikörpern zu bestimmen. Gegenüber Untersuchungen von Weinert (40), die an einem ähnlichen Patientengut durchgeführt wurden, wird demnach als "freies" Insulin die mit Antiserum unterdrückbare Insulinaktivität des Serums angesehen, während Weinert hierzu die Diaphragmamethode anwandte und recht unbefriedigende Ergebnisse erzielte.
Zugleich soll eine Aussage darüber gemacht werden, inwieweit sich die Werte des auf verschiedene Weise bestimmten "freien" Insulins unterscheiden.

II. MATERIAL UND METHODIK

A. Untersuchungsgut

Es wurden die Seren von 40 Patienten verwendet, die in der Medizinischen Poliklinik der Universität München aus verschiedenen Gründen stationär oder ambulant behandelt wurden. Die teils weiblichen, teils männlichen Patienten gehörten vorwiegend den mittleren bis höheren Altersstufen an und waren von verschiedener Konstitution. Es wurde bei allen Patienten eine Glucosebelastungsprobe in Form einer einmaligen oralen Gabe von 100 g D-Glucose durchgeführt. Nach dem Ergebnis der Glucosebelastung wurde das Untersuchungsgut in Gruppen von Patienten mit normaler und pathologischer Glucosetoleranz eingeteilt, ferner in Gefäßgesunde und Gefäßkranke, mit normaler oder pathologischer Glucosebelastungsprobe. Zur Bestimmung des Serum-Insulins wurde parallel zur Glucosebelastungsprobe aus der gestauten Cubitalvene Nüchternblut und Blut 60 bzw. 120 min. nach oraler Glucosegabe gewonnen. Als sicher pathologisch wurde die Glucosetoleranzkurve gewertet, wenn der Blutzucker nach 120 min. über 140 mg% lag. Das Serum wurde nach dem Zentrifugieren eingefroren und bis zur Verwendung tiefgekühlt gelagert.

B. Biochemische Grundlagen

1. Wirkung der insulinähnlichen Aktivität ("freies Insulin") am Diaphragma der Ratte (11, 12, 15, 16, 46, 47):

Unter Insulineinfluß wird am Skelettmuskel vor allem die Aufnahme und Verwertung der Glucose gesteigert. Der Skelettmuskel benötigt zur Aufrechterhaltung seiner kontraktilen Elemente und seiner Eiweißstruktur sehr viel Energie, die er aus der Oxydation der Glucose über den Tricarbonsäurecyclus unter Umständen auch über den anaeroben Weg der Glykolyse erhält. Insulin steigert neben der Einschleußung der Glucose durch Phosphorylierung derselben aber auch den Aufbau von Glykogen, hemmt den Abbau von Eiweiß zu Aminosäuren und steigert den Einbau der Aminosäuren (11, 12, 15, 16)

Als Grundlage einer indirekten Messung des Insulins dient die Steigerung der Glucoseaufnahme am Diaphragma der Ratte.

2. Wirkung der gesamten insulinähnlichen Aktivität (Gesamt-ILA) am Fettgewebe:

Insulin zeigt am Fettgewebe drei gesonderte Stoffwechselwirkungen:

a) Lipoidstoffwechsel: die Fettsäure-Synthese aus Glucose wird gesteigert, die Abgabe freier Fettsäuren dagegen gehemmt (7, 9, 25, 26, 45).

b) Glycogenspeicherung durch Einbau von Glucose gesteigert (45, 44, 26).

c) Die Oxydation von Glucose zu CO_2 wird stark erhöht (7, 25, 41, 42, 43, 44). Diese dritte Wirkung des Insulins auf das Fettgewebe dient zwei weiteren indirekten Insulinbestimmungen als Grundlage:

aa) der Bestimmung durch radioaktiv markierte Glucose bzw. der sich daraus bildenden C_1^{14}- O_2-Aktivität (2, 4, 5, 6, 7, 8, 9). Martin, Renold und viele andere benutzten die Tatsache, daß unter Insulineinfluß das C_1 der Glucose über den Pentose-Phosphat-Zyklus bei weitem schneller und in größerem Maße als C_6 im Fettgewebe oxydiert wird. (Milstein 42).

bb) Froesch et. al. (Lit. 1, 22, 27) fanden für den Nettogasaustausch eine direkte logarithmische Abhängigkeit von der Insulinkonzentration.
Die Wirkung genau dosierter Rinderinsulinkonzentrationen wird verglichen mit der Aktivität des Seruminsulins verschiedener zu untersuchender Seren und aus dem Vergleich der CO_2-Entwicklung auf die enthaltene Insulinmenge geschlossen.

C. Biologische Bestimmung der ILA = Material

a) Serum, das vor oraler Glucosebelastung entnommen und zentrifugiert wurde.

b) Serum, das 60 Minuten nach oraler Glucosebelastung entnommen wurde

c) Serum, das 120 Minuten nach oraler Glucosebelastung entnommen wurde.

2. Versuchstiere:
Sprague-Dawley-Ratten, 120 - 150 g schwer, ad libitum mit Altramin gefüttert, 12 Stunden vor Versuchsbeginn auf Hunger gesetzt:

3. Reagenzien:

a) Krebs-Ringer-Lösung ad 1000 ml aqua bidestillata

NACl	8,26	g =	141,00	m Mol
$CaCl_2 + 2 H_2O$	335,9	mg =	2,284	m Mol
KCl	422,0	mg =	5,660	m Mol
$MgSO_4 + 7 H_2O$	350,0	mg =	1,420	m Mol
KH_2PO_4	193,5	mg =	1,42	m Mol

b) Natriumbikarbonatlösung ad 200 ml aqua bidestillata

$NaHCO_3$	2,875g	=	34,2	m Mol

c) D-Glucose (sog. "kalte" Glucose) 300 mg/100 ml

d) Atmungsgemisch: 95 % O_2
5 % CO_2

e) Inkubationslösung:

54,5 ml Krebsringerlösung (C_1) und 9,5 ml Natriumbicarbonatlösung (C_2), die vorher 5 min. mit reinem CO_2 begast wurde, werden zusammenpipettiert. Diese Lösung wird danach 10 Min. lang mit Atmungsgemisch (C_4) begast und am pH-Meter ein pH-Wert von 7,3 eingestellt.

f) Insulinlösungen:
Standardlösung: 91 mg Rinder-Insulin (10 mal umkristallisiert, glucagonfrei, 0,39 % Zinkgehalt) werden in 10 ml n/10 HCl gelöst. 1 ml dieser Lösung enthält 20 IE Insulin.
Lösung a: 0,1 ml Standardlösung ad 100 ml aqua bidestillata verdünnen. 100 ml dieser Lösung a enthalten 2 IE Insulin.
Die Standardlösung wird bei 0 - 2° C gehalten. Lösung a ist 5 Tage haltbar.
Die übrigen Lösungen werden an jedem Versuchstag aus der Lösung a bzw. der Standardlösung durch entsprechende Verdünnung mit Inkubationslösung (C_5) neu hergestellt. Die Endkonzentrationen in den Trögen betragen: 50, 100, 500, 1000 IE Insulin/ ml.

g) Als Reaktionsgefäße wurden geeichte Warburg-Tröge der Firma Braun in Normalausführung mit einem durchschnittlichen Volumen von 14 ml verwendet.

h) Es wurden U-förmige Manometer der Firma Gils. Electron und Doppelkapillarmanometer der Firma Braun/Melsungen benutzt.

i) Meerschweinchen-Antiserum, das nach 5 - 10-maliger Tierpassage gewonnen worden und biologisch an aufsteigender Insulinkonzentration getestet war, wurde zur Unterdrückung des "freien" Insulins verwendet.

D. Durchführung der Bestimmung der gesamten insulinähnlichen Aktivität mit gleichzeitiger Bestimmung der nicht unterdrückbaren ILA:

Das Nüchternwert-Serum, das Serum 60 min. nach Glucosebelastung und 120 min. nach Glucosebelastung eines Patienten, im Verhältnis 1 : 5 verdünnt, wird in einer Menge von 0,4 ml in je ein Reaktionsgefäß eingefüllt und mit 1,6 ml Glucosepuffer auf 2 ml aufgefüllt.
Parallel dazu wird 0,4 ml der drei Serumarten mit 0,08 - 0,24 ml Antiserum (Anti-Insulin-Serum) und jeweiligem Glucose-Puffer-Restvolumen (auf 2 ml) versetzt.
Das Serum und das Anti-Insulin-Serum werden einige min. vorher vereinigt, um eine bessere Antigen-Antikörper-Reaktion zu bewirken.
Jeweils 6 - 8 Kölbchen pro Versuchsansatz werden mit kristallinem Rinderinsulin verschiedener Konzentration und Glucose-Puffer beschickt, um die jeweilige Tages-Insulin-Standardkurve zu ermitteln. Meist werden je 2 Trögchen mit 100, 500, 1000 IE-Insulin beschickt.
Die Kölbchen werden mit Gummipfropfen fest verschlossen und auf 0,0001 g genau gewogen.

Präparation des epidymalen Fettanhanges:

9 männliche Sprague-Dawley-Ratten, 100 - 150 g schwer, werden mit einem schnellen Hinterhauptschlag betäubt und anschließend das Abdomen der einzelnen Ratten durch einen queren und zwei Längsschnitte breit eröffnet.

Der aufsitzende Fettgewebszipfel der Epididymis wird der Arterie entlang vorsichtig abpräpariert, wobei unter allen Umständen die Verletzung derselben und der Epididymis vermieden werden sollte. Jedes der 18 Anhänge wird in 9 gleichgroße Stückchen aufgeteilt und in jeweils wechselnder Reihenfolge auf die 18 Reaktionsgefäße verteilt, so daß sowohl ein optimaler biologischer Durchschnittswert über die Gesamtzahl der Ratten als auch der Topographie der einzelnen Fettgewebsstückchen erzielt wird. Da die biologische Wertigkeit der beiden Fettgewebsanhänge einer einzigen Ratte als gleichwertig anzusehen ist, enthält jedes der 18 Reaktionsgefäße einen ganzen epidymalen Fettgewebsanhang gleicher biologischer Aktivität.
Die Kölbchen werden vorsichtig verschlossen und zum zweiten Mal auf 0,001 g genau gemessen. Aus der Differenz der beiden Wägungen ergibt sich das genaue Fettgewebsgewicht, das im Durchschnitt zwischen 90 und 160 mg betrug.
Nach Begasung mit Atmungsgemisch (5 min) und Temperaturangleichung(10 min) im Warburgapparat werden die Kamine der Kölbchen luftdicht verschlossen und die Manometerschenkel auf den Leerwert eingestellt.
Die Änderung des Gasdruckes wird viertelstündlich bis halbstündig beobachtet, abgelesen und nach 2 1/2 Stunden ein Endwert festgestellt, der die CO_2-Entwicklung der einzelnen Reaktionsgefäße anzeigt. (Differenz Endwert - Leerwert)
Nach Umrechnung können die entwickelten CO_2-Mengen auf der Standardkurve graphisch aufgetragen und die Insulinmenge logarithmisch abgelesen werden.
Aus der Differenz Gesamt-ILA (gesamter insulinähnlicher Aktivität des Serums) und Nicht-unterdrückbare-Insulin-Aktivität (non suppressible insulin like activity = NSILA) ergibt sich das "freie" oder unterdrückbare Insulin.

E. Manometrische Meßtechnik: (35)

Grundlage der manometrischen Meßtechnik ist die genaue Ermittlung des Systemvolumens, das Ausgangsgröße für die zur Auswertung der manometrischen Ablesung unerläßliche Bestimmung der Gefäßkonstanten ist. Nach Maßangabe des Volumens des leeren

Reaktionsgefäßes und des Volumens der Kapillaren des angeschlossenen Manometers bis zur festgelegten Marke 150 mm ergibt sich die Gefäßkonstante für jedes der zu benutzenden Reaktionssysteme aus der folgenden Formel:

$$K = \frac{V_g \cdot \frac{273}{T} + V \cdot \alpha}{P_o}$$

V_G = Volumen des Gasraumes im Versuchsgefäß einschließlich Manometerkapillare

($V_{Warburgtrog} + V_{Manometer} - 0{,}10$ (Fettkorrektur) $- V_f$)

T = Versuchstemperatur (310,5° Kelvin)

F_F = Volumen des eingefüllten Inkubationsmediums (2 ml)

α = Bunsenscher Absorptionskoeffizient des entstehenden Gases (CO_2 = 0,567 bei 37° C)

P_o = 760 mm Hg umgerechnet auf Manometerflüssigkeit (H_2O-Säule: 10 m)

Die Menge des von 1 mm^3 Gewebe pro Stunde entwickelten Gases (x):

$$\frac{\frac{h \cdot K}{\text{Gewicht des Gewebes}}}{\text{Stunden}} = x$$

(h = Manometerablesung) Höhenunterschied der beiden Manometerschenkel

Tabelle 1 a)

Normale und nicht sicher pathologische Glucosebelastungswerte des gesamten Untersuchungsgutes
Blutzucker in mg% ("wahre Glucose")

Nr. des Patienten	nüchtern	nach Glucosebelastung 30'	60'	90'	120'
1	67	184	201	183	48
4	81	138	106	87	94
5	78	150	172	148	140
6	88	200	118	60	73
8	73	175	227	192	100
9	76	126	110	93	109
10	68	140	168	144	126
13	63	188	182	154	109
15	74	148	129	117	108
16	71	123	106	122	114
17	86	166	165	136	118
19	80	150	159	150	138
20	109	154	165	154	113
21	62	114	119	92	110
23	68	173	117	120	115
27	76	174	154	148	87
28	35	-	136	127	128
29	78	156	133	126	95
30	80	149	148	140	122
32	88	151	176	187	107
33	89	176	141	124	103
37	78	138	158	113	118
41	92	186	182	128	61
42	83	228	216	170	87
44	74	178	125	121	112
45	93	173	184	157	66
46	83	177	92	95	99
47	96	213	194	142	120
48	81	192	142	94	81
49	86	141	189	127	114
50	65	198	137	106	59
52	86	192	158	118	106
56	72	-	116	-	87
57	67	-	102	-	73

Tabelle 1 b)

Gesamt-Insulin-Spiegel (Gesamt-ILA) und nicht unterdrückbare insulinähnliche Aktivität (NSILA) des Serums von Patienten mit normaler Glucosebelastungskurve

Nummer des Patienten	µE-/ ml S e r u m Gesamt - ILA vor Glucosebelastung 0'	60'	120'	NSILA Glucosebelastung 0'	60'	120'
4	160	215	155	70	75	80
7	-	-	-	120	85	115
9	125	280	195	115	240	180
12	130	450	-	75	85	75
14	185	-	220	135	-	175
18	490	1250	550	175	290	185
19	90	110	140	70	85	80
20	680	-	850	350	-	240
22	255	310	570	220	260	-
28		475	-	135	115	95
29	300	475	460	260	280	235
32	125	300	290	200	360	150
36	245	440	410	120	110	-
40	210	260	-	190	145	-
45	185	590	330	150	165	160
46	130	240	280	140	80	160
47	270	200	225	110	110	200
49	500	420	500	155	240	160
51	325	580	320	200	170	270
55	380	340	280	120	255	340
56	460	800	1400	220	400	400
	Ges. ILA			NSILA		
MW	225	335	310	160	185	180
freies Insulin:	65	150	130			

Tabelle 2 a)

Sicher pathologische Glucosebelastung des gesamten Untersuchungsmaterials (mg%)

Nummer des Patienten	nüchtern	nach Glucosebelastung 30'	60'	90'	120'
2	94	190	266	267	247
3	73	180	225	247	234
7	61	132	156	150	160
11	91	134	154	180	189
12	89	141	194	209	206
14	89	140	163	150	169
18	72	158	188	185	180
22	85	145	188	200	184
24	80	187	240	282	225
25	98	208	243	219	228
26	99	160	235	220	219
31	92	117	184	203	181
34	88	158	140	128	141
35	91	142	92	154	150
36	92	212	184	183	148
38	92	185	225	181	182
39	112	174	142	152	132
40	108	194	235	173	168
43	96	192	217	199	180
51	99	174	217	318	265
53	91	---	218	---	144
54	289	---	453	---	453
55	99	---	317	---	236

Tabelle 2 b)

Gesamtinsulinspiegel (Gesamt-ILA) und nicht unterdrückbares Insulin (NSILA) von Patienten mit pathologischer Glucosetoleranz

µE/ml S e r u m

Nummer des Patienten	Gesamt ILA			Nicht unterdrückbare ILA		
	0'	60'	120'	0'	60'	120'
	Glucosebelastung			Glucosebelastung		
6	130	200	160	125	210	128
10	10	46	30	23	20	30
13	85	60	75	130	50	50
17	-	240	350	195	550	650
21	120	90	75	-	-	-
23	130	120	170	130	120	240
24	360	410	460	130	140	300
30	170	250	170	90	80	120
35	190	360	240	220	-	120
37	170	330	500	-	-	-
38	300	325	390	215	150	170
39	160	340	150	180	110	130
42	185	290	300	190	235	190
50	200	280	-	200	140	135
52	75	250	260	42	60	150
53	115	250	140	85	42	110
54	200	300	270	140	160	160
M.W.	160	240	235	140	145	165

freies ILA:	Ges - ILA - NSILA		
M.W.	20	95	70

Tabelle 3 a)

Glucosebelastungswerte der gefäßgesunden Patienten

Nummer des Patienten	nüchtern	nach Glucosebelastung 30'	60'	120'	180'
3	73	180	225	247	234
4	81	138	106	87	94
5	78	150	172	146	140
6	88	200	118	60	73
7	61	132	156	150	160
9	76	126	110	91	109
11	91	134	154	180	189
13	63	188	182	154	109
15	74	148	129	117	108
20	109	154	165	154	113
23	68	173	117	120	115
24	80	187	240	282	225
27	76	174	154	148	87
28	86	-	136	127	128
31	92	117	184	203	181
32	91	142	92	154	150
36	92	212	184	183	148
41	92	186	182	128	61
46	83	177	92	97	99

Tabelle 3 b)

Seruminsulinspiegel (Gesamtinsulin) und "freies" Insulin von gefäßgesunden Patienten (Rattennebenhodenfettgewebsmethode)

µE/ml Serum

Nummer des Patienten	Gesamtes Insulin (Gesamt-ILA)			NSILA-Insulin		
	0'	60'	120'	0'	60'	120'
5	160	215	155	70	75	80
11	10	45	35	23	20	30
13	130	450	-	75	85	75
15	185	-	220	135	-	175
20	90	110	140	70	85	80
23	255	310	570	220	260	-
24	130	120	170	-	120	240
31	170	250	170	90	80	120
41	210	260	-	190	145	-
46	185	590	330	150	165	160
Mittelwerte:						
Gesamt-ILA:				150	260	235
Nicht unterdrückbare ILA:				115	115	120
"freies" Insulin:				35	145	115

Tabelle 4 a)

Glucosebelastungswerte der gefäßkranken Patienten

Nummer des Patienten	Blutzuckerwerte in mg % ("wahre Glucose") nüchtern	nach Glucosebelastung 30'	60'	90'	120'
1	67	184	201	183	48
2	94	190	266	265	247
8	73	175	227	192	100
10	68	45	163	144	126
12	89	141	194	209	206
14	89	140	163	150	169
16	71	123	106	122	114
17	86	166	165	136	118
18	72	158	188	185	180
19	80	150	159	150	138
22	85	145	188	200	184
25	98	208	243	219	228
29	78	156	133	126	95
30	80	149	148	140	112
33	89	176	141	124	103
34	88	158	140	128	141
37	78	138	158	113	118
38	92	185	225	181	182
39	112	174	142	252	132
40	108	194	235	173	168
42	83	228	216	170	87
44	74	178	125	121	112
45	93	173	184	157	66
47	96	313	194	142	120
48	81	192	142	94	81
49	86	141	189	127	114
50	65	198	137	106	59
51	99	174	217	318	265
52	86	192	158	118	106
53	91	-	218	-	144
54	289	-	453	-	463

Tabelle 4 b)

Gesamtinsulin und nicht unterdrückbares Insulin im Serum von gefäßkranken Patienten

µE/ml Serum

Nummer des Patienten	Gesamt-ILA 0'	60'	120'	NSILA 0'	60'	120'
8	-	-	-	120	85	115
10	125	280	195	115	240	180
14	85	60	75	130	50	50
18	195	550	650	-	240	350
19	490	1250	550	175	290	185
22	120	90	75	-	-	-
25	360	410	860	130	140	300
29	-	-	-	135	115	95
30	300	475	460	260	280	235
33	125	300	290	200	360	150
37	245	440	410	120	110	-
38	170	330	500	-	-	-
39	300	325	390	215	150	170
40	160	340	150	180	110	130
42	190	360	240	220	-	120
47	130	240	280	140	80	160
48	270	200	225	110	110	200
49	200	280	-	200	140	135
50	500	420	500	155	240	160
52	325	580	320	200	170	270
53	75	250	260	42	60	150
54	115	250	240	85	42	110

Mittelwerte:

Gesamt ILA			nicht unterdrückbare ILA		
0'	60'	120'	0'	60'	120'
210	325	320	155	150	170

"freies" Insulin:		
0'	60'	120'
55	175	150

Tabelle 5 a)

Glucosebelastungswerte der Gefäßkranken mit normaler Gluc osetoleranz

Nummer des Patienten	Blutzuckerwerte in mg % ("wahre" Glocose) nüchtern	nach Glucosebelastung 30'	60'	90'	120'
1	67	184	201	183	48
8	73	175	227	192	100
10	68	140	168	144	126
14	89	140	163	150	169
16	71	123	106	122	114
17	86	166	165	136	118
29	78	156	133	126	95
30	80	149	148	140	112
33	89	176	141	124	103
37	78	138	158	113	118
42	83	228	216	170	87
44	74	178	125	121	112
45	93	173	184	157	66
47	96	213	194	142	120
48	81	192	142	94	81
49	86	141	189	127	114
50	65	198	137	106	59
52	86	192	158	118	106

Tabelle 5 b)

Gesamte insulinähnliche und nicht unterdrückbare insulinähnliche Aktivität des Serums von Gefäßkranken mit normaler Glucose-Toleranz

μE/ml S e r u m

Nummer des Patienten	Gesamt-ILA 0'	60'	120'	nicht unterdrückbare ILA 0'	60'	120'
8	-	-	-	120	85	115
10	125	280	195	115	240	180
14	85	60	75	130	50	50
29	-	-	-	135	115	95
30	300	475	460	260	280	235
33	125	300	290	200	360	150
37	245	440	410	120	110	-
42	190	360	240	220	-	120
47	130	240	280	140	80	160
48	270	200	225	110	110	200
50	500	420	500	155	240	160
52	325	580	320	200	170	270

Mittelwerte:

Gesamt ILA			nicht unterdrückbare ILA		
0'	60'	120'	0'	60'	120'
230	335	300	160	170	160

"freies" Insulin

0'	60'	120'
70	165	140

Tabelle 6 a)

Glucosebelastungswerte der Gefäßkranken mit pathologischer Glucosetoleranz

Nummer des Patienten	Blutzuckerwerte in mg% ("wahre" Glucose) nüchtern	nach Glucosebelastung 30'	60'	90'	120'
2	94	190	266	265	247
12	89	141	194	209	206
18	72	158	188	185	180
19	80	150	159	150	138
22	85	145	188	200	184
25	98	208	243	219	228
34	88	158	140	128	141
38	92	185	225	181	182
39	112	174	142	152	132
40	108	194	135	173	165
51	99	174	117	318	265
53	93	-	218	-	144
54	289	-	453	-	463

Tabelle 6 b)

Gesamte insulinähnliche und nicht unterdrückbare insulinähnliche Aktivität des Serums von Gefäßkranken mit pathologischer Glucosetoleranz

Nummer des Patienten	Gesamt-ILA			nicht unterdrückbare ILA		
	0'	60'	120'	0'	60'	120'
18	195	550	650	-	240	350
19	490	1250	550	175	290	185
22	120	90	75	-	-	-
25	360	410	860	130	140	300
38	170	330	500	-	-	-
39	300	325	390	215	150	170
40	160	340	150	180	110	130
51	200	280	-	200	140	135
53	75	250	260	42	60	150
54	115	250	140	85	42	110

Mittelwerte:

Gesamt ILA			nicht unterdrückbares ILA		
0'	60'	120'	0'	60'	120'
220	320	335	150	145	195

"freies" Insulin

0'	60'	120'
70	175	140

IV. D I S K U S S I O N

Auf Grund der im Schrifttum vorliegenden Ergebnisse (17, 19, 49, 50, 51) darf man annehmen, daß die diabetische Stoffwechsellage eher mit hohen, als mit niedrigen Insulinserumwerten einhergeht. Vom länger bestehenden, jugendlichen Insulinmangeldiabetes abgesehen, trifft dies für die Altersdiabetiker ebenso zu, wie für latente Diabetiker und Prädiabetiker.
Bei noch normaler Glucosetoleranz - in der Phase des Prädiabetes - sind also bereits erhöhte Seruminsulinwerte vorhanden, die wohl anzeigen, daß der Organismus der drohenden Stoffwechselentgleisung nur noch mit erhöhter Insulinsekretion Herr werden kann.
Bei unseren Untersuchungen, die an gefäßkranken und gefäßgesunden Patienten mit normaler und pathologischer Glucosetoleranz durchgeführt wurden, stellte sich nun die Frage, welcher Faktor für die erhöhten Serum-Insulinwerte der wichtigere zu sein schien: entweder die pathologische Glucosetoleranz im Sinne eines latenten Diabetes, oder das Vorliegen einer Arteriosklerose, die von vielen Autoren (49, 50, 51) als Prädiabetes - Symptom angesehen wird. Die Untersuchungen von Weinert (40), die mit anderer Methode durchgeführt worden waren, haben Hinweise dafür gegeben, daß die Patienten - Gefäßkranke und Gefäßgesunde zusammengenommen - bei pathologischer Glucosetoleranz höhere Insulinwerte aufweisen. Diese Hinweise konnten unsere Befunde nicht bestätigen, auch wenn ebenso wie bei Weinert die starke Streuung der Resultate eine statistisch gesicherte Aussage verbietet.
Die Mittelwerte für die Gesamt-ILA bei den Patienten mit normaler Glucose-Toleranz betrugen:

0'	60'	120'	
225	335	310	(μE/ml-Serum)

bzw. das mit Anti-Körper unterdrückbare "freie" Insulin:

0'	60'	120'	
65	150	130	(μE/ml-Serum)

Demgegenüber wiesen die Patienten mit pathologischer Glucose-Toleranz erstaunlicherweise eher etwas niedrigere Werte auf, nämlich:

Gesamte insulinähnliche Aktivität (Gesamt-ILA)

0'	60'	120'	
160	240	235	(μ-E/ml Serum)

mit Antikörpern unterdrückbare ("freie") insulinähnliche Aktivität:

0'	60'	120'	
20	95	70	(μ-E/ml Serum)

In Anbetracht der Tatsache, daß Weinert die Unzuverlässigkeit der von ihm verwendeten Diaphragma-Methode demonstrieren konnte, kommen eher die von diesem Autor bestimmten Werte des gesamten Insulins (am Nebenhodenfettgewebe der Ratten bestimmt) für einen Vergleich in Betracht. Diese Werte sind den unseren wesentlich ähnlicher, auch wenn wir den Anstieg der Serum-Insulinwerte bis zum Zeitpunkt zwei Stunden nach Glucosebelastung bei den Patienten mit pathologischer Glucose-Toleranz vermissen.
Gute Übereinstimmung besteht hingegen hinsichtlich des anderen Phänomens, das Weinert auf Grund seiner Untersuchungen nur vermutet, wir hingegen eindeutig demonstrieren konnten. Wenn man die Mittelwerte der gefäßgesunden und gefäßkranken Patienten einander gegenüberstellt, ergibt sich folgendes Bild:

Gesamte insulinähnliche Aktivität (Gesamt-ILA)

	0'	60'	120'	
Gefäßgesunde:	150	260	235	(μ-E/ml Serum)
Gefäßkranke:	210	325	320	

Mit Antikörpern unterdrückbare insulinähnliche Aktivität (sogenanntes "freies" Insulin)

	0'	60'	120'	
Gefäßgesunde	35	145	115	(μ E/ml-Serum)
Gefäßkranke	55	175	150	

Es ist deutlich zu erkennen, daß die gefäßkranken Patienten zu jedem Zeitpunkt der Untersuchungen sowohl hinsichtlich des "freien" als auch hinsichtlich des gesamten Insulins (Gesamt ILA) höhere Werte aufweisen. Dies weist die Gefäßkranken als Prädiabetiker aus. Bei einer weiteren Aufstellung, die nocheinmal die Verhältnisse der Glucose-Toleranz bei den Gefäßkranken aufschlüsselt, ergibt sich folgendes Bild:

Gesamte insulinähnliche Aktivität des Serums (Gesamt-ILA)

	0'	60'	120'	
Path. Glucose-Toleranz	220	320	335	(μ E/ml-Serum)
norm. Glucose-Toleranz	230	335	300	

Mit Antikörper unterdrückbare insulinähnliche Aktivität des Serums ("freies" Insulin)

	0'	60'	120'	
Path. Glucose-Toleranz	70	175	140	(μE/ml-Serum)
norm. Glucose-Toleranz	70	165	140	

Hier ist nun ganz klar zu erkennen, daß bei den Gefäßkranken die Seruminsulinwerte durch das Verhalten der Glucosetoleranz nicht beeinflußt wird.
Man darf demnach sagen, daß für die Höhe der Serum-Insulinwerte der Zustand des Prädiabetes (mit normaler Glucose-Toleranz) offenbar bedeutsamer ist, als die pathologisch veränderte Glucose-Toleranz, bei der ja sonst auch oft erhöhte Serum-Insulin-Werte gefunden wurden.
Nach unserer Ansicht bietet sich folgende Erklärung für dieses Phänomen an: die eigentlichen Prädiabetiker kompensieren - wie oben ausgeführt - ihre Stoffwechsellage noch durch eine erhöhte Ausschüttung von Insulin. Aus unerklärlichen Gründen ist bei diesen Patienten mehr Insulin erforderlich, um eine noch normale Glucose-Toleranz zu erreichen. Möglicherweise ist der erhöhte Anteil von Insulin-Antagonisten im Blut oder ein mangelndes Ansprechen der peripheren Gewebe auf das Insulin hierfür verantwortlich.
Bei Patienten mit einer gestörten Glucose-Toleranz kann man sich auch vorstellen, daß die Störung durch ein allmähliches Nachlassen der vorher - im prädiabetischen Stadium - übermässig in Gang gesetzten Sekretion des Insulins hervorgerufen wird. Insofern scheint es logisch zu sein, daß sich bei unseren Untersuchungen das Merkmal "Prädiabetes" (im Sinne einer generalisierten Arteriosklerose) als wichtiger erweist, als das Merkmal "pathologische Glucose-Toleranz".

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei insgesamt 40 gefäßkranken und gefäßgesunden Patienten mit normaler oder pathologischer Glucose-Toleranz wurden Untersuchungen der gesamten insulinähnlichen Aktivität (Gesamt-ILA) und des sogenannten "freien" Insulins im Serum durchgeführt. Für diese Untersuchungen wurde die biologische, am Nebenhodenfettgewebe der Ratte durchgeführte Methode verwendet, bei der man durch Zusatz von Insulin-Antiserum auch den Anteil des "freien", d. h., mit Antikörpern unterdrückbaren Insulins bestimmen kann. Die Untersuchungen ergaben, daß gefäßkranke Patienten, vor und nach einer oralen Glucose-Belastung zu jedem Zeitpunkt höhere Werte des "freien" und des "gesamten" Insulins aufwiesen, als gefäßgesunde Patienten. Diese höheren Serum-Insulinwerte darf man als Symptom eines "Prädiabetes" bei den Arteriosklerotikern werten.
Bemerkenswert ist, daß sich jedoch keine Unterschiede ergaben zwischen Patienten mit einer normalen und einer pathologischen Glucose-Toleranz. Es scheint so, als wären in der prädiabetischen Phase höhere Serum-Insulinwerte zu erwarten, als in der Phase des latenten Diabetes, also bei bereits beeinträchtigter Glucose-Toleranz. Die Ergebnisse wurden mit dem vorliegenden Schrifttum verglichen und diskutiert.

VI. L I T E R A T U R

1. E.R.Froesch, H.Bürgi, E.B.Ramseier,P.Bally, A. Labhardt Journal of Clinical Investigation,Nr. 11,1816, (1963) "Antibody-suppressible and nonsupp. ILA in human serum and their physio logic significance"

2. A.E.Renold,O.B.Crofford W.Stauffacher,B.Jeanrenaud Diabetologia 1,4-12,(1965) "Hormonal Control of Adipose Tissue Metabolism, with special reference to the Effects of Insulin"

3. O.Wieland, E.Siess A.Teinzer,E.Struck Diabetologia 1,21-27(1965) "Bildung eines insulinartigen Wirkstoffes durch die isolierte Rattenleber"

4. Martin D.B., A.E.Renold Y.M. Dagenais Lancet 2,76 (1958) "An assay for insulin-like-activity using rat adipose tissue"

5. A.E.Renold, D.B.Martin et.al. Journ.Clin.Invest. 39,1457(1960) 41, 1699 (1962) "Measurement of small quantities of ILA using rat adipose tissue" I. a proposed procedure

6. A.E.Renold, D.B.Martin et. al. Journ.Clin.Invest.39,1499 (60) "II. Evaluation of performance"

7. Jeanrenaud B. Metabolism (1961),10,535 "Dynamic aspects of adipose tissue metabolism: a review"

8. Ditschuneit H., Ahn C.S. Pfeiffer M.u.E.F. klin. Wochens.37,1234, 1239 (1959) "Über die Bestimmung von Insulin im Blut am epid. Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glucose"

9. Weinges H., Wörner K.F. klin. Wo.Schr.39,238(1961) "Über den Einfluß von Ins.-u.Glucag. auf den Gluc.Stoffw.des epid. Fettanhanges der Ratte in vitro"

10. Lyngsdoe J. et. al. Scand.Jour.Clin.Lab. Invest.(1961),13,628 "Determination of ILA in serum using rat epidymal adipose tissue"

11. Vallance-Owen Hurlock J. and B. Lancet 1,68 (1954) " 2,583(1955) "Estimation of plasma-insulin by the rat diaphragm method"

12. Wright P. H. Lancet (1957),2,621 "Plasma-insulin estimation by the rat-diaphragm method"

13. H. S. Seltzer, Smith W.L. Diabetes (1959),8,417 "Plasma insulinactivity after glucose. An index of insulogenic reserve in normal and diabetic man"

14. P. J. Randle Endocrin.(1957),1,115 "Insulin in blood"

15. Willebrand A.F.,Groen J. van der Geld H. Diabetes (1958),7,119 "Determination of serum insulin using the isolated rat diaphragm. The effect of serum-dilution

16. R. E. Humbel Experientia (Basel) 1953, 256 "Messung der Seruminsulinaktivität im epid. Rattenfettgew. in vitro"

17. Beigelmann P. M. Diabetes (1959), 8,29 "ILA of normal and diabetic human serum"

18. Stellmann S.L., et.al. "An improved in vitro method for determination of serum-insulin-l.a."
Proc.Soc.exper.Biol.
(1960),105, 595

19. Froesch E.R.,Bürgi H. "freies" und "gebundenes" Insulin
Ramseier E.B.,Bally P. im Serum von Patienten mit B-Insel-
Labhardt A. zell-Adenom"
Helv.med.acta 29,527(1962)

20. Bürgi,H.,E.R. Froesch "Fate of rat insulin in ratliver
K.Schwarz,K. Kobetz perfusion studied by adipose-tissue
Lancet 2, 314, (1963) essay"

21. T.Halmos, B.Loczka et.al. "New biological method for deter-
Europ.Diabetes-Gesell. mining the ILA of human serum"
1.Jahrestagung,Abstract 22

22. E.F.Pfeiffer "Fettgewebs-ILA und immunolog.
H.H. Ditschuneit, et. al. Seruminsulin"
Eur.Gesell.f.Diabetologie
Abstracts 23/24

23. E.R. Froesch et. al. "Biological properties of purified
Eur.Ges.f.Diabet. nonsuppressible ILA"
Abstr. 26,7

24. Winnegrad A.J.,W.N.Shaw "Effects of growth hormon in vitro
Renold A.E.et.al. on the metabolism of glucose in
Jour. of biol.Chemistry rat adipose tissue"
(1959), 234, 922

25. Winnegrad A.J.et.al. "Effects of insulin on the meta-
Jour.biol.Chemistry bolism of Glucose, Pyruvat and Ac."
(1958), 233, 267, 273

26. Cahill G.g.jr.,Leboeuf B. "Studies on rat adipose tissue
Flinn R. B. in vitro"
Journ.biol.Chemistry
(1961), 236, 41
(1959), 234, 2540

27. Ball E.G., Martin D.B. Cooper B. Journ. biol. Chem. (1961), 237 — "The effect of insulin on glucose as measured by the manometric determination of Carbon dioxide output"

28. Shaw.W.M. Shuey E.W. Biochemistry (1963) 2, 286 — "The presence of two forms of insulin in normal human serum"

29. Groen J.A.,Willebrands F. et. al. Ciba Found.Coll.Endocr. (1958) 12, 255 — "Determination of serum insulin in patients with islets cell tumors of pancreas"

30. S.A. Berson, Yalow R.S. N.Y.St.J.med. (1960) 60, 3650 — "Insulin inhibitors and insulin resistance"

31. S.A. Berson, R.S. Yalow Journ. of clim.Investig. (1960), 39, 1157 — "Immunassay of endogeneous plasma insulin in man"

32. A. Schrader,K.Schwarz dtsch.med. Wochschr. 87, 2635, 1962 — "Nachweismethoden und klin. Bedeutung insulinähnlicher Aktivitäten"

33. H. Taylor, Randle P.J. et. al. — "The effect of insulin antiserum on the insulin of serum and protein fractions of serum"

34. Leonards J.R., Landau B.R. Bartsch G. J.Lab.clin.Med. (1962) 60/552 — "Assay of insulin and insulin-like activity with rat epididymal fat pad"

35. Umbreit W.B.Burris R.H. et. al. Minneapolis, 1957 — "Manometric Technics and Related Methods for the Study of Tissue Metabolism"

36. Beigelmann P.M., Onoprienko J.S. Diabetes 8,438 (1959) — "Insulin-like effects of serum albumin and glob.fractions on gluc. uptake by rat epid.adip.tissue"

37. Goldberg, H.L.
Egdahl R. H.
Fred.Proc.20,190 (1961)
"Studies suggesting the extra-pancreatic production of subst. with I-L-A"

38. Samaan et. al.
Diabetes 12, 339 (1963)
"Changes in levels of atypical circulating insulin after infusing typical and atypical forms of serum-i."

39. Haugaard N., Marsh J.B.
Journ. biol. Chem.
"Effect of insulin on the metabolism of adipose tissue from normal rats"

40. Weinert Dieter
Inaugural-Dissertation
1965
"Dynamik der Insulinsekretion bei Patienten mit und ohne Arteriosklerose"

41. H. Mehnert, G. Schäfer
klin. Wochens.
40, 654 (1962)
"Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Biguaniden auf die Glucoseoxydation am epydimalen Fettanhang der Ratte und am subcutanen Fettgewebe d. Menschen"

42. Milstein W.S.
Proc.Soc.ep.biol.
92, 632, (1956)

43. F.G.Young, Broom W.S.
Wolff W.F.
Blackwell-Scientific-Publications
Oxford 1960, 165
"The mechanism of action of insulin"

44. Wertheimer E., Shafrir E.
Rec. Prog. Horm. Res. 16,
467, (1960)

45. Katz J., Wood H.G.
Jour.biol.Chem.
238, 517, (1963)
The use of C_{14} O_2 yields from glucose 1- and - 6 - C_{14} for the evaluation of the pathways of glucose-metabolism.

46. Klinis D.M.
Ann. X.N.Y.Acad.Scien.
82, 354 - 365 (1959)
"Regulation of glucose uptake by muscle. Functional significance of permeability an phosphorylatin activities"

47. Krahl M.E.
Ann. NY. Acad. Scient.
649 - 670 (1951)
"The effect of insulin and pituatary hormons in glucose uptake in muscle"

48. Antoniades H. N.
Gundersen K.
Endocrinology, 68
36 - 42 (1961)
"Studies on the state of insulin in blood"

49. Vallance - Owen, J.
Stuttgart 1963
Lancet I, II 1226 (1963
226 (1963)
"Fortschritte in der Diabetes-forschung"

50. Renold A.E., Steinke J.
Stuttgart 63
"Fortschritte in der Diabetes-forschung"

51. Ditschuneit H.
Vortrag, Diabetes -
Symposion (Genf 63)

52. Steinke J., A.E. Renold
J. S. Soeldner
Diabetes 12, 502
(1963)
"Studies on serum-ILA in Prediabetes and early covert Ciabetes"

Herrn Priv. Doz. Dr. H. Mehnert bin ich für die Überlassung des Themas, für seine jederzeit gewährte tatkräftige Unterstützung und Zusammenarbeit zu besonderem Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. W. Seitz danke ich dafür, daß ich an seiner Klinik arbeiten durfte.

Herrn Prof. Dr. W. Lamprecht und den Assistenten des biochimischen Institutes der TH München schulde ich für die Ratschläge und Unterstützung Dank.

VII. L E B E N S L A U F

Am 30. 7. 1941 wurde ich als dritter Sohn des Dipl.-Ing. Haimo Sattlegger und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Zeiträg, in Spittal/Kärnten, geboren.

Nach dem Tode meines Vaters - er starb in Stavanger/Norwegen - kehrte meine Familie nach Nördlingen, dem früheren Wohnsitz meiner Mutter, zurück. Dort besuchte ich die evangelische Knabenvolksschule und bestand im Juni 1960 am Gymnasium Nördlingen das Abitur.

Wintersemester 1960/61 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen. Nach dem Physikum setzte ich mein Medizinstudium an der Ludwig-Maximilian-Universität München fort und ich beabsichtige, nach dem Sommersemester 1966 das Staatsexamen abzulegen.